

博士学位論文

内容の要旨及び審査結果の要旨

第 54 号

2024 年 9 月

京 都 産 業 大 学

は し が き

本号は、学位規則（昭和 28 年 4 月 1 日文部省令第 9 号）第 8 条の規定による公表を目的とし、令 6 年 3 月 16 日 17 日に本学において博士の学位を授与した者の論文内容の要旨及び論文審査結果の要旨を収録したものである。

学位番号に付した甲は学位規則第 4 条第 1 項によるもの（いわゆる課程博士）であり、乙は同条第 2 項によるもの（いわゆる論文博士）である。

目 次

課程博士

1. 川島 亮太郎	〔博士（経済学）〕	1
2. 川西 康之	〔博士（先端情報学）〕	4
3. 堤 智香	〔博士（生命科学）〕	7
4. 岩本 駿吾	〔博士（生命科学）〕	9

氏 名（本 籍）	岩本 駿吾（京都府）
学 位 の 種 類	博士（生命科学）
学 位 記 番 号	甲生 第 11 号
学位授与年月日	令和 6 年 9 月 21 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
論 文 題 目	低容量糖代謝ストレスを介したがん幹細胞性制御機構の解明
論文審査委員	主 査 板 野 直 樹 教授
	副 査 加 藤 啓 子 教授
	〃 潮 田 亮 准教授

論 文 内 容 の 要 旨

がん幹細胞（CSCs）は、自己複製によりがん幹細胞を生み出すと同時にがん細胞に分化し、腫瘍形成に働くとされている。また、がん幹細胞は化学療法や放射線治療に耐性をもち、がん再発の主要因であると考えられている。近年では、乳がんや大腸がん、膵臓がんなど様々ながん種でがん幹細胞の存在が明らかとなっており、がん幹細胞とがん細胞の相互変換を制御する細胞内代謝の重要性が注目されている。またこれまでの研究では、悪性乳がん細胞でヒアルロン酸が過剰に産生されていることや、ヒアルロン酸過剰産生乳がん細胞において、高い造腫瘍能や自己複製能を示すがん幹細胞様の細胞の割合が増加することが明らかとなっている。

ヒアルロン酸は、*N*-アセチル-D-グルコサミン（GlcNAc）と D-グルクロン酸（GlcUA）の二糖繰り返し構造からなる高分子多糖で、細胞内の糖ヌクレオチドであるウリジン二リン酸（UDP）-GlcNAc と UDP-GlcUA を合成基質として合成される。ヒアルロン酸は巨大な糖鎖分子であり、その生合成に糖供与体である UDP-GlcNAc や UDP-GlcUA を大量に必要とする。そこで本研究では、ヒアルロン酸産生による糖代謝の変化とがん幹細胞性との関連に着目して以下の研究を行った。

まず、細胞における糖鎖構造の網羅的解析を行い、ヒアルロン酸過剰産生乳がん細胞における *N*-結合型糖鎖前駆体であるトリコール結合オリゴ糖（LL0）の著しい減少と *N*-結合型糖鎖プロファイルの特徴的な変化を明らかにした。UDP-GlcNAc はヒアルロン酸生合成に必要な糖供与体であると同時に、LL0 や *N*-結合型糖鎖の合成に必要な糖供与体でもある。従って、ヒアルロン酸過剰

産生乳がん細胞では、LL0 合成および *N*-結合型糖鎖修飾反応への UDP-GlcNAc の供給不足が、*N*-結合型糖鎖プロファイルの変化の要因であると考えられた。そこで次に、*N*-結合型糖鎖修飾阻害剤であるツニカマイシン (TM) や解糖系阻害剤 2-デオキシ-D-グルコース (2-DG) の低用量処理により、対照乳がん細胞の LL0 合成と *N*-結合型糖鎖修飾を部分的に阻害し、がん幹細胞性と抗がん剤のシスプラチンに対する耐性について解析した。その結果、低用量の TM あるいは 2-DG 処理により、がん幹細胞様細胞が増加し、がん幹細胞性の指標であるマンモスフィア形成とシスプラチン耐性が亢進した。RNA-seq と Gene Set Enrichment 解析は、低容量の糖代謝ストレスに曝された対照乳がん細胞で、Notch シグナル伝達経路が活性化していることを明らかにした。また、阻害剤による Notch シグナル伝達の遮断、あるいはグルコサミン (GlcN) とマンノース (Man) 添加による *N*-結合型糖鎖修飾の回復は、マンモスフィア形成とシスプラチン耐性を減弱した。以上の結果は、低容量の糖代謝ストレスが、*N*-結合型糖鎖修飾の変化と Notch シグナルの活性化を通じて、がん細胞のがん幹細胞性と抗がん剤耐性を促進することを示唆している。

論文審査結果の要旨

本学位論文は、低容量の糖代謝ストレスががん幹細胞性を促進する機構について調査したものである。

がん幹細胞は、がん細胞の供給源としてがんの発生や進展に重要であるほか、従来の化学療法や放射線治療に抵抗性を示し、転移や再発を引き起こすことから、根治を阻む最大の要因と考えられている。しかし、がん幹細胞性やその特徴の一つである抗がん剤抵抗性の獲得に働く機構は、いまだ十分に解明されておらず、そのため転移・再発がんの治療法も極端に限定されている。転移・再発した治療抵抗性のがんを従来の化学療法により治療可能とするためには、がん幹細胞性の維持や抗がん剤抵抗性の獲得に働く機構の解明が重要な課題となっている。

本研究では、ヒアルロン酸糖鎖の過剰産生によって引き起こされる低容量の糖代謝負荷が、がん幹細胞性の促進や抗がん剤抵抗性の獲得に果たす役割について解析し、以下の結果を得た。まず、乳がん病態モデルマウスより樹立した初代乳がん細胞とヒアルロン酸過剰産生乳がん細胞を用いて、グライコミクスによる糖鎖の包括的プロファイリングを実施し、ヒアルロン酸の過剰産生が *N*-結合型糖鎖に質的・量的変化をもたらすことを明らかにした。ヒアルロン酸過剰産生がん細胞では、対照がん細胞に比べて、パウチマンノース型や短いハイマンノース型糖鎖の割合が増加し、逆に長いハイマンノース型糖鎖の割合が減少することを示した。そして、末端に $\alpha 2,6$ シアル酸構造を有する糖鎖の割合が増加し、末端に $\alpha 2,3$ シアル酸構造を有する糖鎖やバイセクティングGlcNAc分岐構造を持つ糖鎖の割合が減少することを示した。さらに、HPLC 分析を実施し、ヒアルロン酸過剰産生細胞では、*N*-結合型糖鎖修飾に必須の糖ヌクレオチドおよび成熟型ドリコール結合オリゴ糖が有意に減少していることを明らかにした。ヒアルロン酸は、*N*-アセチルグルコサミンとグルクロン酸の繰り返し構造を持つ高分子多糖であり、細胞内糖ヌクレオチドであるUDP-*N*-アセチルグルコサミンとUDP-グルクロン酸を基質としてヒアルロン酸合成酵素により生合成される。よって以上の結果は、ヒアルロン酸過剰産生による糖ヌク

レオチドの消費が、糖代謝に持続的な負荷をかけ、*N*-結合型糖鎖の量や構造に影響を及ぼしたことを示唆している。

そこで、低濃度のツニカマイシンで対照乳がん細胞を長期間処理して*N*-結合型糖鎖修飾を部分的に阻害し、がん幹細胞性への影響について検討した。その結果、ヒアルロン酸過剰産生と同様に、低濃度のツニカマイシン処理により、*N*-結合型糖鎖のプロファイルが変化し、がん幹細胞様細胞が増加することを見出した。RNA-seq網羅的遺伝子発現解析により、ツニカマイシン処理細胞では、がん幹細胞性の制御にはたらくとされるNotchシグナルやWnt/ β -カテニンシグナルが活性化していることを明らかにした。さらに、ヒアルロン酸過剰産生や低濃度のツニカマイシン処理による持続的な糖代謝負荷が、抗がん剤シスプラチンに対する耐性を増強すること、一方、グルコサミンやマンノースによる糖代謝負荷の軽減が、シスプラチン抵抗性を減弱することを示した。以上の結果は、持続的かつ低容量の糖代謝負荷が、がん幹細胞性を促進して、がん細胞の抗がん剤耐性獲得に重要であることを示唆している。本研究により得られた結果は何れも新規性があり、がん幹細胞の制御や抗がん剤耐性獲得の機構を理解するうえで大変意義がある。そして本論文に関する内容は、国際専門雑誌であるCell Death & Disease. 15(1):53 (2024)に掲載されている。主査、副査の博士論文調査委員による論文審査の結果、研究課題に新規性が認められること、作業仮説や実験方法に妥当性があること、そして、結果の解釈や考察が適切に導かれていることから、本論文は博士学位論文としてふさわしいものであると認められた。また、令和6年8月6日に開催された公聴会では、発表内容は論理的かつ明瞭にまとめられており、質疑応答に対しても的確に回答されていた。

以上より、本論文は、博士(生命科学)の学位を授与するに値するものであり、申請者は当該分野に関する学力において、博士の学位に相応しい資格を有すると認められ、論文審査及び最終試験に合格と判定する。